مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۱، دوره ۶۷، شماره ۴، ۳۷۲-۳۶۵

اثر امپرازول بر میزان جذب IgG تام آغوز در بره‌های تازه متولد شده

اکبر ارفعی آخوله [۱] محمد نوری [۱*] آریا رسولی [۱] مسعود قربانپور [۲]

۱) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز ـ ایران.

۲) گروه پاتو بیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز ـ ایران.

(دریافت مقاله: ۲۱ فروردین ماه ۱۳۹۱ ، پذیرش نهایی: ۳۱ خرداد ماه ۱۳۹۱)

چکیده

زمینه مطالعه: امپرازول داروی مهارکننده ترشح اسید از شیردان می‌باشد. اسیدیته شیردان در جذب ایمونوگلوبولین‌ها موثر می‌باشد. **هدف:** ارزیابی اثرات افزایش pH شیردان ناشی از مصرف امپرازول بر میزان جذب پادتن‌ها از روده‌ی بره‌های نوزاد بود. **روش کار:** این مطالعه روی ۳۰ رأس بره تازه متولدشده انجام گرفت. بره‌ها بلافاصله پس از تولد و قبل از دریافت آغوز از مادر جدا و به ۶ گروه ۵ رأسی تقسیم شدند. گروه۱؛ بره‌ها از تولد تا ۸۴ ساعت آغوز، گروه۲؛ بره‌ها از زمان تولد تا ۸۴ ساعت پس از آن آغوز + امپرازول (۴mg/kg)، گروه۳؛ بره‌ها از زمان تولد تا ۲۴ ساعت پس از آن شیر و از ساعت ۲۴ تا ۸۴ پس از تولد آغوز، گروه۴؛ بره‌ها از تولد تا ۲۴ ساعت پس از آن شیر + امپرازول و از ساعت ۲۴ تا ۸۴ پس از تولد آغوز + امپرازول، گروه۵؛ بره‌ها از زمان تولد تا ۶ ساعت پس از آن شیر و از ساعت ۶ تا ساعت ۸۴ پس از تولد آغوز و گروه۶؛ بره‌ها از زمان تولد تا ۶ ساعت پس از آن شیر + امپرازول و از ساعت ۶ تا ۸۴ پس از تولد آغوز + امپرازول دریافت کردند. خون‌گیری از بره‌ها در زمان‌های صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از تولد انجام گردید. نمونه‌های سرم از نظر IgG-تام با روش ELISA غیرمستقیم مورد بررسی قرار گرفتند. **نتایج:** در این مطالعه تفاوت معنی‌داری بین غلظت IgG تام خون بره‌های گروه شاهد ۳ و تیمار ۴ وجود داشت و میزان جذب IgG تام در گروه ۴ به‌شکل معنی‌داری کاهش یافته بود ولی بین باقی گروه‌های شاهد و تیمار اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. **نتیجه‌گیری نهایی:** بنابراین تصور می‌گردد، بالا بردن pH شیردان در بدو تولد تأثیر معنی‌داری بر روی افزایش جذب IgG تام ندارد. به نظر می‌رسد که علت کاهش میزان IgG-تام در گروه ۴ تأخیر در تخلیه معدی باشد که در اثر تجویز امپرازول رخ می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: IgG تام، آغوز، امپرازول، بره‌های نوزاد، جذب.

مقدمه

بره به هنگام تولد فاقد ایمونوگلوبولین‌های مادری است، چون انتقال داخل رحمی ایمونوگلوبولین‌ها از طریق جفت صورت نمی‌پذیرد و بره‌ها، به طور معمول به هنگام تولد آگاما گلوبولینمیک می‌باشند و کاملاً به ایمونوگلوبولین‌های آغوز وابسته هستند (۳،۳۹،۴۱). مشکل اساسی در این دسته از حیوانات زمان کوتاهی (۳۶-۲۴ ساعت) است که ایمونوگلوبولین‌های موجود در آغوز می‌توانند از راه روده جذب شوند (۴). عواملی مثل جایگزین شدن سلول‌های روده‌ای، افزایش اسیدیته شیردان، تغییر ترشحات روده‌ای و ظاهر شدن واکوئل‌های گوارشی داخل سلول‌های پوششی که بعد از مدت کوتاهی پس از تولد ایجاد می‌شوند را به عنوان دلایل این مهم عنوان نموده‌اند (۳۲).

برای مدت زمان کوتاهی بعد از تولد، ترشح آنزیم‌های گوارشی در حد پایین باقی می‌مانند و در نتیجه ماکرومولکول‌هایی نظیر IgG از عمل هضم دور مانده و بیشتر جذب می‌شوند (۳۲،۳۳). بعد از ۱۲ ساعت، ترشح آنزیمی به شکل مشخصی افزایش می‌یابد، که این افزایش باعث تخریب پادتن‌ها و کاهش جذب آن‌ها می‌گردد (۲۰،۳۲). همان طور که در بالا ذکر شد یکی از عواملی که ممکن است باعث کاهش جذب ایمونوگلوبولین‌ها شود پایین آمدن pH شیردان است. شیردان در دوره جنینی و تا چند ساعت پس از تولد دارای pH نزدیک خنثی می‌باشد و هر چه از تولد می‌گذرد از pH آن کاسته می‌شود به طوری که ۲۴ ساعت پس از تولد به کمتر از ۵ می‌رسد (۲۰،۳۲،۳۷). شیردان نشخوارکنندگان حداقل ۳ پروتئاز تولید می‌کند که شامل پپسین A، پپسین B (گاستریسین) و کیموزین (رنین) است که هر سه به شکل پروآنزیم از سلول‌های مخاطی پیلور و غدد فوندوس تولید می‌شوند و برای این‌که به شکل فعال تبدیل گردند به pH پایین‌تر از ۴ نیاز دارند (۱۲). در pH پایین پپسینوژن به پپسین تبدیل شده، سبب تخریب ایمونوگلوبولین‌ها می‌شود (۲۹،۳۲).

از آنجا که یکی از دلایل کوتاه بودن زمان مصرف مفید آغوز در نوزادان اسیدی شدن معده پس از تولد می‌باشد، در این مطالعه سعی شد با استفاده از داروی امپرازول (مهارکننده‌ی قدرتمند ترشح اسید) که اثرات مهارکنندگی آن در گوسفند، گوساله و اسب به اثبات رسیده است (۱،۱۴،۱۶،۴۲)، از اسیدی شدن محیط معده جلوگیری گردد و اثر آن بر جذب ایمونوگلوبولین‌ها سنجیده شود. انتظار این وجود دارد که با این کار از تخریب ایمونوگلوبولین‌ها در اثر فعال نشدن پپسینوژن و نیز عدم تغییر شکل آن‌ها جلوگیری شده و جذب آن‌ها افزایش یابد.

مواد و روش کار

این مطالعه بر روی ۳۰ رأس بره تازه متولد شده صورت گرفت. بره‌ها پس از تولد و قبل از دریافت آغوز از مادر جدا گشته و پس از خشک کردن و

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۰۶۱۱-۳۹۲۱۴۹۰ نمابر: ۰۶۱۱-۳۳۶۰۸۰۷ Email: mnoori25@gmail.com

ضدعفونی ناف خون‌گیری زمان صفر از ورید وداج صورت می‌گرفت، سپس بره‌ها در یکی از گروه‌های شش‌گانه زیر قرار می‌گرفتند:

گروه ۱- بره‌ها از زمان تولد تا ۸۴ ساعت پس از آن آغوز دریافت می‌نمودند.

گروه ۲- بره‌ها از زمان تولد تا ۸۴ ساعت پس از آن آغوز به همراه امپرازول (4mg/kg) دریافت می‌نمودند.

گروه ۳- بره‌ها از زمان تولد تا ۲۴ ساعت پس از آن شیر و از ساعت ۲۴ تا ۸۴ پس از تولد آغوز دریافت می‌نمودند.

گروه ۴- بره‌ها از زمان تولد تا ۲۴ ساعت پس از آن شیر به همراه امپرازول (4mg/kg) و از ساعت ۲۴ تا ۸۴ پس از تولد آغوز به همراه امپرازول دریافت می‌نمودند.

گروه ۵- بره‌ها از زمان تولد تا ۶ ساعت پس از آن شیر و از ساعت ۶ تا ۸۴ پس از تولد آغوز دریافت می‌نمودند.

گروه ۶- بره‌ها از زمان تولد تا ۶ ساعت پس از آن شیر به همراه امپرازول (4mg/kg) و از ساعت ۶ تا ۸۴ پس از تولد آغوز به همراه امپرازول دریافت می‌نمودند.

آغوز و شیر مورد استفاده برای تغذیه‌ی بره‌ها در این مطالعه آغوز حقیقی و شیر گوسفند بوده که به میزان ۲۰۰mL/kgBW (۲،۲۶،۲۷،۳۱،۳۵)، در فواصل زمانی صفر، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۶۰، ۷۲ و ۸۴ ساعت پس از تولد توسط سوند معدی به بره‌ها خورانده می‌شد (به استثنای گروه‌های ۵ و ۶ که در ۶ ساعت اول شیر و پس از آن آغوز دریافت می‌کردند). به همین خاطر قبل از شروع مطالعه اقدام به تهیه بانک آغوز گردید تا آغوز مورد استفاده در تمام گروه‌ها یکسان باشد.

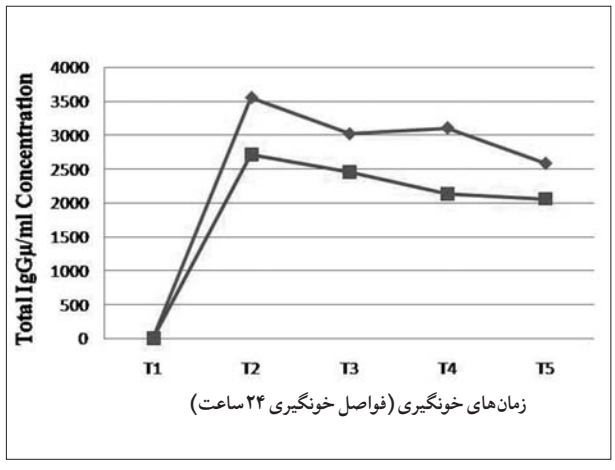
در کلیه‌ی گروه‌های آزمایش در فواصل زمانی صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از تولد از ورید وداج بره‌ها خون‌گیری به عمل می‌آمد. پس از سانتریفیوژ خون در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه، سرم‌های بدست آمده در میکروتیوب‌های شماره گذاری شده تا زمان انجام آزمایش در دمای $-20^{o}C$ ذخیره می‌شدند. پس از اتمام نمونه‌گیری، نمونه‌های سرمی از نظر میزان IgG تام با یک روش الایزای غیر مستقیم خانگی طبق روش Erhard و همکاران در سال ۱۹۹۲ با کمی تغییرات به شرح زیر مورد بررسی قرار گرفتند(۱۳):

جهت انجام آزمایش الایزا غیرمستقیم پس از بدست آوردن رقت مناسب پادتن اولیه (پادتن ضد IgG گوسفند تهیه شده در الاغ)، و رقت‌های مناسب سرم و کونژگه‌ی پراکسیداز ضد IgG گوسفند (Sigma، امریکا) ابتدا پادتن اولیه به میزان ۱:۱۰ در بافر کربنات- بی‌کربنات با pH =۹/۶ اضافه گردید و به میزان ۱۰۰µL در هر یک از چاهک‌های پلیت الایزا (nunc، دانمارک) اضافه شد. پلیت به مدت یک شب، جهت اتصال پادتن اولیه به پلیت در دمای یخچال قرار داده شد. پس از آن محتوای پلیت تخلیه و سپس داخل چاهک-ها سه مرتبه با بافر PBS حاوی ۰/۰۵٪ توئین ۲۰ و یک بار با PBS شستشو گردید. به هر حفره پلیت به میزان ۲۵۰µL بافر بلوک کننده (PBS حاوی ۵ درصد شیر پس چرخ) اضافه و پلیت به مدت یک ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. پلیت مجدداً چهار مرتبه شستشو گردید. نمونه‌های سرم بره‌ها به نسبت ۱:۱۰ در یک پلیت الگو با PBS رقیق گردید و با کمک سمپلر هشت کاناله مقدار ۱۰۰µL از هر سرم به چاهک مربوطه در پلیت الایزا اضافه گردید هر نمونه سرم در دو چاهک جداگانه ریخته شد. همزمان از هر استاندارد (۳۸۰۰µg، ۱۹۰۰، ۹۵۰، ۴۷۵، ۲۳۸، ۱۱۹ و صفر، IgG گوسفند در میلی لیتر) نیز در ۲ چاهک جداگانه در ستون‌های ۱ و ۱۲ پلیت ریخته شد.

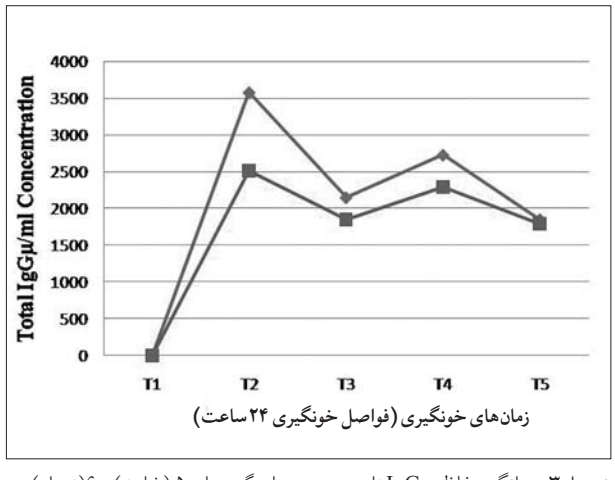
پلیت به مدت۱ساعت در دمای آزمایشگاه قرار گرفت و سپس مانند مراحل قبل پلیت چهار بار شستشو گردید. در مرحله بعد به تمامی چاهک‌ها به میزان ۱۰۰µL گونژگه پراکسیداز رقیق شده (۱:۴۰۰۰ در PBS) اضافه گردید و پلیت به مدت۱ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. پس از آن چاهک‌ها مطابق مراحل قبل چهار مرتبه شستشو گردید. به تمامی چاهک‌ها مقدار ۱۰۰µL از محلول سوبسترا کرموژن TMB (Biotech Coma، کره جنوبی) اضافه گردید و پلیت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. در نهایت به تمامی چاهک‌ها به میزان ۵۰µL اسید سولفوریک۱ نرمال اضافه گردید و دانسیته نوری (OD) چاهک‌ها در طول موج ۴۵۰nm توسط دستگاه الایزا ریدر خوانده شد. با توجه به میانگین OD به دست آمده از هر استاندارد و میزان IgG موجود در آن، نمودار استاندارد در نرم افزار اکسل ترسیم گردید و با در نظر گرفتن میانگین OD حاصل از هر نمونه‌ی سرم و با کمک نمودار ترسیم شده میزان IgG موجود در هر نمونه محاسبه گردید و میزان IgG تام هر نمونه سرم از حاصل ضرب عدد بدست آمده در ضریب رقت محاسبه شد. نتایج بدست آمده از الایزا با استفاده از روش آماری یومن ویتنی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

میانگین غلظت IgG تام سرم در بره‌های مختلف تحت مطالعه در جدول (۱) آمده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، میانگین IgG تام سرم در بره‌های گروه ۲ که از ابتدا آغوز به همراه امپرازول دریافت نموده‌اند نسبت به گروه شاهد خود (گروه۱) کاهش یافته است ولی این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نیست($p>0/05$). میانگین IgG تام سرم در بره‌های گروه ۴ که به مدت ۲۴ ساعت شیر و امپرازول و پس از آن آغوز و امپرازول دریافت نموده بودند به طور معنی‌داری کمتر از گروه ۳ (شاهد) است ($p<0/05$). میانگین IgG تام سرم در بره‌های گروه ۶ نیز که به مدت ۶ ساعت شیر و امپرازول و پس از آن آغوز و امپرازول دریافت نموده‌اند، نیز نسبت به گروه ۵ (شاهد) کمتر است ولی این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نیست ($p>0/05$). در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تجویز داروی امپرازول خوراکی نه تنها باعث افزایش سطح سرمی IgG تام نمی‌شود بلکه باعث کاهش سطح سرمی آن نیز می‌گردد.



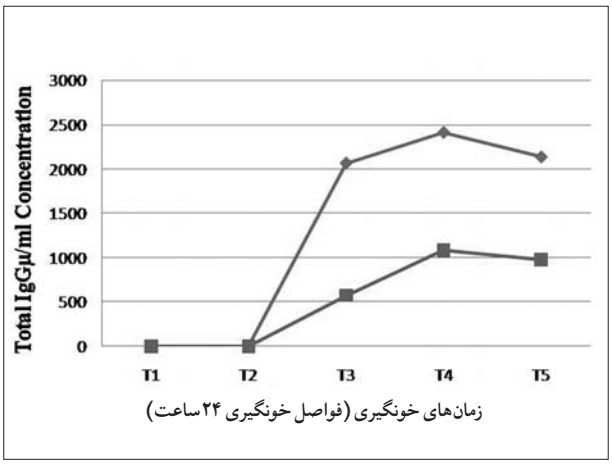
نمودار۱- میانگین غلظت IgG تام سرم در بره‌های گروه‌های ۱ (شاهد) و ۲(تیمار) در زمان‌های مختلف پس از تولد. *میزان غلظت در گروه۲ در مقایسه با گروه۱ در تمام زمان‌های خون‌گیری کاهش قابل توجه داشته است ولی اختلاف آنها معنی‌دار نیست(p>۰/۰۵). گروه۱ گروه ۲



نمودار ۳- میانگین غلظت IgG تام سرم در بره‌های گروه‌های ۵ (شاهد) و ۶(تیمار) در زمان‌های مختلف پس از تولد. *کاهش میزان غلظت IgG تام در گروه۶ در مقایسه با گروه۵ در تمام زمان‌ها وجود دارد ولی اختلاف آنها معنی دار نیست(p>۰/۰۵).
گروه ۵ گروه ۶

بحث

هنوز به خوبی مشخص نگردیده که چرا در نوزاد نشخوارکنندگان کمی بعد از تولد جذب ایمونوگلوبولین‌ها متوقف یا کم می‌شود. عده‌ای از محققین بر این عقیده‌اند که جذب ایمونوگلوبولین‌ها از طریق اپتلیوم نشتی یا پینوسیتوز انجام می‌گیرد و جایگزین شدن سلول‌های دارای توانایی پینوسیتوز با سلول‌هایی که دیگر توانایی پینوسیتوز ندارند را عاملی مهم در قطع جذب ماکرومولکول‌هایی نظیر ایمونوگلوبولین‌ها از دیواره روده می‌دانند (۲۲،۲۴،۳۵). برخی دیگر عواملی مثل بالغ شدن روده که شامل جایگزین شدن سلول‌های روده‌ای، افزایش اسیدیته شیردان، به وجود آمدن ترشحات روده‌ای و ظاهر شدن واکوئل‌های گوارشی داخل



نمودار۲- میانگین غلظت IgG تام سرم در بره‌های گروه‌های ۳ (شاهد) و ۴(تیمار) در زمان‌های مختلف پس از تولد. *کاهش میانگین غلظت IgG تام در گروه۴ در مقایسه با گروه۳ در تمام زمان‌های خون‌گیری چشمگیر بوده و اختلاف آنها معنی‌دار است(p<۰/۰۵). گروه ۳ گروه ۴

سلول‌های پوششی که بعد از مدت کوتاهی بعد از تولد ایجاد می‌شوند را دخیل می‌دانند (۳۲،۳۹).

در انسان و برخی از جوندگان جفت از نوع دسموکوریال بوده و به ایمونوگلوبولین‌های مادری اجازه عبور و ورود به گردش خون جنین را می‌دهد در صورتی‌که جفت در نشخوارکنندگان از نوع سیندسموکوریال است و چنین اجازه‌ای را نمی‌دهد، بنابراین نوزاد نشخوارکنندگان به هنگام تولد عاری از ایمونوگلوبولین‌های مادری بوده و برای مقابله با عوامل پاتوژن وابسته به ایمونوگلوبولین‌های موجود در آغوز می‌باشند (۳،۵،۶،۱۸،۳۰،۳۹).

به علت عدم وجود انتقال جفتی ایمونوگلوبولین‌ها، بره‌ها با کمترین غلظت سرمی آنتی بادی متولد می‌شوند(۹). بنابراین بره‌ها به هنگام تولد کاملاً وابسته به جذب ایمونوگلوبولینها از آغوز مادری هستند تا از طریق انتقال ایمنی، یک حفاظت موقت بر ضد عوامل بیماریزا به دست آورند (۲۱). در مقایسه با سایر گونه‌ها، جذب پروتئین‌ها(ایمونوگلوبولین‌ها) از روده‌ی بره‌ها غیر انتخابی بوده و به وسیله سلول‌های پوششی نابالغ که دارای تعداد زیادی واکوئل هستند، انجام می‌گیرد (۲۳،۲۴).

آغوز اولین غذایی است که نوزاد پستانداران بعد از تولد دریافت می‌کنند و دارای غلظت بالایی از پروتئین است به طوری که ایمونوگلوبولین‌ها پروتئین غالب موجود در آن می‌باشند (۸). در تعدادی از گونه‌های حیوانی مانند نشخوارکنندگان، خوک و سگ (۵،۸) مقدار زیادی از پروتئین‌ها، بویژه ایمونوگلوبولین‌ها می‌توانند به شکل سالم و دست نخورده جذب شوند. بنابراین جذب ایمونوگلوبولین‌ها ممکن است برای فراهم نمودن یک ایمنی غیرفعال موقت در نوزاد تازه متولد شده‌ی گوسفند و خوک حیاتی باشد. جذب بدون تغییر پروتئین‌های جیره به علت فعالیت پروتئولیتیکی پایین در دستگاه گوارش نوزادان بهتر انجام

جدول۱- میانگین غلظت IgG تام سرم (µg/mL) در گروه‌های شاهد و تیمار در زمان‌های مختلف پس از تولد. *اختلاف میانگین بین گروه ۳ (شاهد) و گروه ۴ (تیمار) معنی دار ($p<0/05$) است.

گروه	زمان (ساعت)				
	۰	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶
شاهد ۱	۰	۳۵۴۸/۴۰±۱۰۸۱/۳۱	۳۰۱۵/۶۰±۱۰۸۲/۶۳	۳۱۰۳/۲۰±۱۲۰۰/۹۰	۲۵۸۱/۲۰±۶۶۶/۵۵
تیمار ۲	۰	۲۷۱۷/۲۰±۴۵۱/۳۸	۲۴۵۸±۴۱۸/۵۵	۲۱۳۵/۸۰±۹۶۲/۷۸	۲۰۶۳/۴۰±۲۲۲/۹۸
شاهد ۳	۰	۰	۲۰۶۹/۸۰±۷۶۷/۹۵*	۲۴۱۵/۲۰±۱۰۳۳/۹۲*	۲۱۳۸/۸۰±۷۹۵/۵۸*
تیمار ۴	۰	۰	۵۷۴/۸۰±۳۴۴/۸۸*	۱۰۸۴/۸۰±۴۷۵/۱۵*	۹۷۶/۶۰±۴۴۵/۱۳*
شاهد ۵	۰	۳۵۷۹/۸۰±۱۹۵۱/۶۲	۲۱۵۰/۲۰±۸۶۴/۰۲	۲۷۲۹/۶۰±۱۷۷۴/۳۰	۱۸۵۱/۸۰±۱۰۹۹/۵۹
تیمار ۶	۰	۲۵۱۰/۴۰±۶۲۲/۴۶	۱۸۵۰±۷۱۵/۸۱	۲۲۸۴/۶۰±۱۰۶۵/۵۷	۱۷۸۷±۸۸۳/۸۶

می‌گیرد (۱۷).

نشان داده شده است که جذب آنتی‌بادی‌ها از روده‌ی بره‌های تازه متولد شده، ۳۶-۲۴ ساعت پس از تولد متوقف می‌شود، بدین معنی که سلول‌های روده جذب ماکرومولکول‌ها را متوقف می‌نمایند که به این حالت اصطلاحاً بسته شدن سلول‌های روده گفته می‌شود (۳۰). در بره‌ها ۲۴ تا ۳۶ ساعت پس از تولد سلول‌های مولد اسید فعال گشته pH شیردان را پایین آورده که بواسطه آن فعالیت آنزیمی به طور چشمگیری افزایش می‌یابد و این درست همزمان با توقف جذب ایمونوگلوبولین‌ها در روده می‌باشد (۲۰). این که آیا غیر از بسته شدن سلول‌های روده‌ای عوامل دیگری در جذب ایمونوگلوبولین‌ها مؤثر می‌باشند، یا خیر، هنوز به خوبی مشخص نمی‌باشد. عده‌ای کاهش pH شیردان ۲۴ ساعت پس از تولد را یکی از دلایل عدم جذب ایمونوگلوبولین‌های آغوز در این زمان می‌دانند (۳۹).

نشان داده شده است در جنین گوسفند سلول‌های مولد پپسینوژن در روزهای ۷۶ تا ۸۲ آبستنی به فراوانی در مخاط شیردان یافت می‌شوند، ولی سلول‌های مولد اسید به صورت پراکنده و ناچیز وجود دارند و ۴۸-۳۶ ساعت پس از تولد بر تعداد آن‌ها افزوده می‌گردد (۲۰). Hill در سال ۱۹۵۶ نشان داده است که pH شیردان بره‌های تازه متولد شده خنثی می‌باشد و تا ۳۶-۲۴ ساعت پس از تولد، تبدیل پپسینوژن به پپسین میسر نیست و فعالیت پروتئولیتیکی شیردان بین ۳۶-۲۴ ساعت پس از تولد آغاز می‌شود. از آنجاییکه آغاز فعالیت پرتئولیتیکی شیردان مصادف با قطع جذب ایمونوگلوبولین‌ها می‌باشد، احتمال وجود رابطه‌ای بین این دو متصور می‌شود (۲۰).

در موش نشان داده شده است که pH معده نوزادان حدود ۶ می‌باشد و تا هفته سوم پس از تولد به همین وضعیت باقی مانده و ایمونوگلوبولین‌ها نیز جذب می‌شوند و سپس بر میزان اسید معده افزوده می‌شود که این درست همزمان با قطع جذب ایمونوگلوبولین-ها از روده باریک می‌باشد (۲۵). نتایج مطالعه فوق نشان داده است که تخریب پروتئین‌ها در معده موش تا انتهای هفته سوم بعد از تولد که هنوز سلول‌های مولد اسید فعال نمی‌باشند، حداقل بوده و از این به بعد که همزمان با قطع جذب ایمونوگلوبولین‌ها توسط سلول‌های روده می‌باشد، فعالیت پروتئولیتیکی معده نیز آغاز می‌شود. از طرف دیگر در خوکچه هندی که ایمونوگلوبولین‌های ضروری را از طریق جفت بدست می‌آورد، سلول‌های مولد اسید معده از دوره جنینی فعال می‌باشند و به هنگام تولد، pH معده پایین می‌باشد (۳۸).

در مطالعه کنونی فرض بر این بود که در صورت بالا نگه داشتن pH شیردان در بره‌های متولد شده، بر میزان جذب ایمونوگلوبولین‌های آغوز افزوده خواهد شد. این فرضیه با تجویز خوراکی داروی امپرازول که یک داروی مهارکننده‌ی قوی پمپ پروتونی می‌باشد و افزایش دهندگی pH معده ناشی از آن در گونه‌های مختلفی نظیر گوسفند، اسب، گوساله و انسان به اثبات رسیده بود (۱،۱۴،۱۶،۳۳،۴۲) در بوته آزمایش قرار گرفت.

نتایج این مطالعه نشان داد که تأخیر در مصرف آغوز و تجویز امپرازول، هر دو می‌توانند باعث کاهش جذب IgG تام گردند. در مقایسه‌ای که بین گروه یک و سایر گروه‌ها انجام گرفته بود اختلاف بین گروه ۱ با گروه‌های ۳ و ۴ چشمگیر بوده که این اختلاف بین گروه ۱ و ۴ معنی‌دار بود ($p<0/05$). کاهش میزان IgG تام خون گروه ۳ در مقایسه با گروه شاهد ۱ چشمگیر بود و این کاهش می‌تواند به این دلیل باشد که در این گروه بره‌ها ۲۴ ساعت پس از تولد آغوز دریافت نمودند و در این زمان سلول‌های روده‌ای بسته شده بود و IgG دیگر نمی‌توانست جذب و وارد خون گردد و سطح خونی IgG تام در آن‌ها بدین ترتیب کاهش یافت. بره‌های گروه ۴ با اینکه شیر را به همراه امپرازول در ۲۴ ساعت اول بعد از تولد دریافت نموده بودند و بعد از ۲۴ تا ۸۴ ساعت آغوز همراه امپرازول دریافت کردند IgG تام بطور چشمگیری پایین تر ($p<0/05$) از گروه ۱ که از همان بدو تولد آغوز دریافت نموده بودند بود. علت پایین بودن بیش از حد IgG تام در این گروه باز همانند گروه ۳ می‌تواند تأخیر در دریافت آغوز باشد که ۲۴ ساعت پس از تولد انجام گرفت و علاوه بر آن، علت دیگر می‌تواند دریافت امپرازول باشد که سبب وقفه حرکات شیردان می‌گردد. مطالعات عدیده نشان داده است رابطه مستقیمی بین تخلیه معده و جذب مواد وجود دارد بطوری که هرچه معده

با سرعت بیشتری تخلیه گردد جذب هم بیشتر صورت می‌پذیرد (۱۹). در ارتباط با امپرازول مطالعات متعددی نشان داده است که کاهش اسید معده با کاهش تخلیه آن همراه است (۲۲،۴۰). بنابراین به نظر می‌رسد عدم مصرف آغوز در ۲۴ ساعت اول بعد از تولد و مصرف امپرازول با خاصیت وقفه‌ای در تخلیه شیردان عامل اصلی کاهش چشمگیر ایمونوگلوبولین‌های خون در این گروه باشد.

مطالعاتی که بر روی داروهای رانتیدین، فاموتیدین، و امپرازول با دوزی که ترشح اسید معده را کاهش می‌دهند، انجام شده موید این مطلب است که این داروها علاوه بر کاهش اسید معده حرکات و تخلیه معدی را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهند و تخلیه معدی را به تأخیر می‌اندازند (۴۰) و زمانی که ورود آغوز به روده با تأخیر صورت گیرد میزان ایمونوگلوبولین جذب شده نیز کاهش پیدا خواهد کرد (۱۵).

گروه سوم و چهارم بدین منظور طراحی شده بودند که پی برده شود آیا در صورت به تاخیر انداخته شدن مصرف آغوز، با بالا نگه داشتن pH شیردان می‌توان به جذب آغوز کمک نمود یا نه؟ همان‌طور که قبلاً نیز اشاره شد، گفته می‌شود که یکی از عوامل تخریب ایمونوگلوبولین‌های آغوز در ۲۴ ساعت پس از تولد کاهش pH شیردان است. در این مرحله با استفاده از امپرازول pH شیردان بالا نگاه داشته شد تا از فعال شدن پپسینوژن جلوگیری به عمل آید ولی همان‌طور که نتایج نشان داد نه اینکه نسبت به گروه شاهد افزایش جذب وجود نداشت بلکه به شکل معنی‌داری کاهش جذب IgG تام مشاهده گردید. گروه‌های ۵ و ۶ که در ۶ ساعت اول شیر و از ساعت ۶ پس از تولد تا ۸۴ ساعت پس از تولد آغوز دریافت کرده بودند و در گروه ۶ امپرازول نیز مصرف شده بود، برای این منظور طراحی شده بودند که اگر زمان طلایی خوردن آغوز از دست برود آیا می‌توان با افزودن امپرازول میزان جذب آغوز را افزایش داد یا خیر؟ که نتایج حاصله در این دو گروه نیز اختلافشان معنی‌دار نبوده و افزایشی مشاهده نگردید و بر خلاف انتظار کاهش محسوسی در میزان IgG تام در گروه ۶ (تیمار) وجود داشت. که همه این اثرات می‌تواند مرتبط با اثرات کاهش تخلیه معدی و کاهش حرکات دستگاه گوارش امپرازول باشد.

در مطالعه‌ی Shirazi و همکاران در سال ۱۳۸۹ نیز مشخص گردید در صورتی که دریافت آغوز به تأخیر افتد تجویز داروی پنتوپرازول بر جذب ایمونوگلوبولین‌های آغوز تأثیری ندارد (۳۶).

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که دادن امپرازول و بالا بردن pH شیردان بر افزایش جذب ایمونوگلوبولین‌های آغوز تأثیری نداشته است که شاید به دلیل نقش اندک اسید معدی در تخریب ایمونوگلوبولین‌ها باشد و یا آنکه دوز داروی داده شده به اندازه کافی pH شیردان را پایین نمی‌آورد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از حمایت‌های مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز برای انجام این مطالعه تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Ahmed, A.F., Constable, P.D., Misk, N.A. (2005) Effect of orally administered omeprazole on abomasal luminal pH in dairy calves feed milk replacer. J. Vet. Med. 52: 238-242.
2. Aitken, I.D. (2007) Diseases of Sheep. (4th ed.) Blackwell Publishing Ltd. Oxford, UK.
3. Aldridge, B., Garry, F., Adams, R. (1992) Role of colostral transfer in neonatal calf management: failure of acquisition of passive immunity. Comp. Cont. Educ. Pract. Vet. 14: 265-270.
4. Balfour, W.E., Comline, R.S. (1962) "Acceleration of the absorption of unchanged globulin in the new-born calf by factor in colostrum". J. Physiol. 160: 234-257.
5. Brambell, F.W. (1970) the Transport of Passive Immunity from the Mother to the Young. North Holland Publishing, Amsterdam. The Netherlands.
6. Brandon, M.R., Lascelles, A.K. (1975) The effect of prepartum milking on the transfer of immuno-globulins into mammary secretions of cows. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 53: 197-204.
7. Braun, J.P., Rico, A.G., Benard, P. (1978) Tissue and blood distribution of gamma-glutamyl transferase in the lamb and in the ewe. Res. Vet. Sci. 25: 37-40.
8. Butler, J.E. (1974) Immunoglobulins in the mammary secretions. In: Lactation. Larson, B.L., Smith, V. R. (eds.). Academic Press. New York, USA.
9. Campbell, S.G., Sicgzl, M.J., Knowlton, B.J. (1977) Sheep immunoglobulins and their transmission to the neonatal lambs. N. Z. Vet. J. 25: 361.
10. Chao-Cheng, C., Yen-Ying, T., Hung-Min, C. (1999) Efficiency and protective effect of encapsulation of milk immunoglobulin G in multiple emulsion. J. Agric. Food Chem. 47: 407-410.
11. Clarke, R.M., Hardy, R.N. (1969) An analysis of the mechanism of cessation of uptake of macromolecular substances by the intestine of the young rat (closure).

J. Physiol. 204: 134 127.

12. Cybulski, W., Andren, A. (1990) Immunohistochemical studies on the development of cells containing progastricsin (minor pepsinogen) in comparison to prochymosin and pepsinogen in Bovine abomasal mucosa. Anat Rec. 227: 458-463.
13. Erhard, M. H., Quistop, I., Von-schrmner, I., Jungling, A., Kaspers, B., Schmidt, P., et al. (1992) Development of specific enzyme linked immunosorbent antibody assay for detection of immunglobulins G.M.A. using monoclonal antibodies. Poutlt. Sci. 71: 302- 310.
14. Fox, M.T., Uche, U.E., Vaillant, C., Ganabadi, S., Calame, J. (2002) Effects of ostertagia and omeprazole treatment on feed intake gastrin-related responses in the calf. Vet. Parasitol. 105: 285-301.
15. Godden, S.M., Haines, D.M., Konkol, K., Peterson, J. (2009) Improving passive transfer of immunoglobulins in calves. II: Interaction between feeding method and volume of colostrum fed. J. Dairy Sci. 92: 1758-1764.
16. Grabau, B.J., Zavros, Y., Hardy, K.J., Shulkes, A. (1999) Developmental regulation of gastric somatostatin secretion in the sheep. Endocrinology. 140: 603-608.
17. Guilloteau, P., Corring, T., Garnot, P., Martin, P., Toullec, R., Durand, D. (1983) Effect of age and weaning on enzyme activities of abomasum and pancreas of the lamb. J. Dairy Sci. 66: 2373-2385.
18. Hallday, R. (1978) Immunity and health in young lambs. Vet. Rec.103: 489-492.
19. Heading, R.C., Nimmo, J., Prescott, F., Tothill, P. (1973) The dependence of paracetamol absorption on the rate of gastric emptying. Br. J. Pharmacol. 47: 415-421.
20. Hill, K.J. (1956) Gastric Development and Antibody Transference in the Lamb, with some observation on the Rat and Guinea-pig. Q J Exp Physiol. 41: 421-432.
21. Hohenboken, W.D., Mu, N.E. Berggren-Thomas, P.L., Norman, L.M. (1986) Inheritance of active and passive humoral immunity in ruminants. N. Z. Soc. Anim. Prod. 46: 5-14.
22. Kamiya, T., Shikan, M., Tanaka, M., Tsukamoto, H., Ebi, M., Hirata, Y., et al. (2011) The effect of Omeprazole on gastric myoelectrical activity and emptying. J. Smooth Muscle Res. 47: 79-87.
23. Lecce, J.G., Morgan, D.O. (1962) Effect of dietary regimen on cessation of intestinal absorption of large molecules (Closure) in the neonatal pig and lamb. J. Nutr. 78: 263-268.
24. Lecce, J.G., Morgan, D.O., Matrone, G. (1984) Effect of feeding colostral and milk components on the cessation of intestinal absorption of large molecules (closure) in neonatal pigs. J. Nutr. 84: 43-48.
25. Manville, I.A., Lloyd, R.W. (1932) The hydrogen ion concentration of the gastric juice of faetal and newborn rats. Am. J. Physiol. 100: 394-401.
26. Mellor, D.J. (1988) Integration of perinatal events, pathophysiological changes and consequences for the newborn lamb. Br. Vet. J. 144: 552-569.
27. Mellor, D.J., Murray, L. (1986) Making the most of colostrums at lambing. Vet. Rec. 118: 351-3.
28. Moran, J. (2002) Calf Rearing. (2^{th} ed.) LandLinks Press. Collingwood. Victoria, Australia.
29. Parkin, D.M., McClelland, D.B.L., Samson, R.R., Lees, M.M., Shearman, D.J.C. (1973) The Effect of Acid, Pepsin and Trypsin on Human Colostral IgA Agglutinins. Eur. J. Clin. Invest. 3: 66-71.
30. Pastoret, P.P., Griebel, P., Bazin, H., Govaerts, A. (1998) Handbook Of Vertebrate Immunology. Academic Press, London, UK.
31. Pugh, D.G. (2002) Sheep and Goats Medicine. (1^{st} ed.) WB. Saunders Company, Philadelphia, USA.
32. Quigley, J. (2002) Passive immunity in newborn calves. Adv. Dairy Technol. 14: 273-293.
33. Sandian, A., Andrews, F.M., Nadeau, J.A., Doherty, T.J., Nilsson, G. (1999) Effect of intramuscular Omeprazole on gastric acid secretion in horses over twenty-four hour period. Equine Vet. J. Suppl. 29: 50-53.
34. Sangild, P.T. (2003) Uptake of colostral immunoglobulins by the compromised newborn farm animal. Acta .Vet. Scand. Suppl. 98: 105-22.

35. Sargison, N. (2008) Sheep Flock Health. (1st ed.) Blackwell Publishing Ltd. Singapore.
36. Shirazi, M.R., Ghadrdan Mashhadi, A., Nouri, M., Ghorbanpour Najaf Abadi, M. (2011) Effect of Pantoprazole on the rate of Immunoglobulin Absorption in Newborn Calves. J. Vet. Res. 66: 203-208.
37. Shulkes, A., Chick, P., Hardy, K.J., Robinson, P., Trahair, J. (1985) Ontogeny of gastric acidity in the ovine fetus. J. Dev. Physiol. 7: 195-206.
38. Sutherland, G.F. (1921) Contributions to the physiology of the stomach. LV2. The response of the stomach glands to gastrin before and shortly after birth. Am. J. Physiol. 55: 398-403.
39. Tizard, I.R. (2000) Veterinary Immunology. (6th ed.) WB. Saunders, Philadelphia, USA.
40. Tougas, G., Earnest, D.L., Chen, Y., Vanderkoy, C., Rojavin, M. (2005) Omeprazole delays gastric emptying in healthy volunteers: an effect prevented by tegaserod, Aliment. Pharmacol. Ther. 22: 59-65.
41. Weaver, D.M., Tyler, J.W., VanMetre, D.C., Hostetler, D.E., Barrington, G.M. (2000) Passive Transfer of Colostral Immunoglobulins in Calves. J. Vet. Int. Med. 14: 569-577.
42. Westbrook, L., Mcdowell, G.H., Hardy, K.J., Shulkes, A. (1998) Active immunization against somatostatin alters regulation of gastrin in response to gastric acid secretagogues. Am. J. Physiol. 274: 751-756.

J.Vet.Res. 67,4:365-372,2012

The effect of Omeprazole on colostral total IgG absorption in neonatal lambs

Arfaei-Akhoole, A.[1], Nouri, M.[1*], Rasooli, A.[1], Ghorbanpoor, M.[2]

[1]*Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahwaz, Ahwaz- Iran.*

[2]*Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahwaz, Ahwaz- Iran.*

(Received 9 April 2012 , Accepted 20 June 2012)

Abstract:

BACKGROUND: Omeprazole as an inhibitor decreases abomasal acid secretion. On the other hand, acidity would be a determinant for absorption of Immunoglobulins. **OBJECTIVES:** The aim of this study was to evaluate the effect of increasing abomasal pH due to Omeprazole administration on the rate of intestinal immunoglobulin absorption in newborn lambs. **METHODS:** 30 lambs immediately after birth were divided into 6 groups of 5 animals each as follows: Group1; The lambs received colostrum from birth to 84 hours after birth. Group2; The lambs were fed by colostrum + Omeprazole (4mg/Kg) from birth to 84 hours after birth. Group 3; The lambs were given milk for the first 24 hours and after then until hour of 84 by colostrum + Omeprazole. Group 4; The lambs were fed with milk + Omeprazole for the first 24 hours and after then until hour of 84 with colostrum + Omeprazole. Group 5; The lambs received milk for the first 6 hours after birth and after then received colostrums until hour of 84. Group 6; The lambs were fed with milk + Omeprazole in the first 6 hours after birth and after then until hour of 84 by colostrum + Omeprazole. Blood samples were collected at 0,24,48,72 and 96 hours after birth. The total IgG was measured by ELISA method. **RESULTS:** Serum IgG levels in group 4 showed significant decrease when compared with the control (group 3). However, no significant difference was shown in the serum IgG levels among groups. **CONCLUSIONS:** The results of this study showed that after birth increase in abomasal pH do not make effect on IgG absorption.

Key words: IgG, colostrum, lambs, Omeprazole, absorption.

Figure Legends and Tabel Captions

Graph 1. Mean of total serum IgG Concentrations in lambs of group 1 (control) and group 2 (treatment) in different time points after birth. There is no significant difference between total serum IgG concentrations of Group1 and Group 2 ($p>0.05$).

Graph 2. Mean of total serum IgG concentrations in lambs of group 3 (control) and group 4 (treatment) in different time points after birth. There is significant difference between total serum IgG concentrations of Group3 and Group 4 ($p<0.05$).

Graph 3. Mean of total serum IgG concentrations in lambs of group 5 (control) and group 6 (treatment) in different time points after birth. There is no significant difference between total serum IgG concentrations of Group5 and Group 6 ($p>0.05$).

Table 1. Mean of total IgG concentrations (µg/mL) in control and treatment groups in different time points after birth. There is significant difference between total serum IgG concentrations of Group 3 and Group 4. ($p<0.05$).

***Corresponding author's email: mnoori25@gmail.com, Tel: 0611-3921490, Fax: 0611-3360807**